

Chimiothérapie des theilérioses bovines par un anticoccidien, l'halofuginone. Note préliminaire

par G. UILENBERG, F. JONGEJAN, N. M. PERIE et F. F. J. FRANSSEN

(Institut de Maladies tropicales et Protozoaires, Faculté de Médecine vétérinaire
Biltstraat 172, Utrecht, Pays-Bas)

RÉSUMÉ

L'anticoccidien halofuginone est un schizonticide puissant contre *Theileria parva*, agent de la fièvre de la Côte Est et de la *Corridor disease* des bovins en Afrique. Des cas cliniques de ces maladies sont guéris par des doses uniques de 1 à 2 mg/kg, administrées par la bouche.

Le produit ne semble pas doué d'une grande activité sur les piroplasmes de *T. parva*. Il fait temporairement disparaître ceux de *T. mutans*, sauf dans un cas où un veau splénectomisé, traité 2 fois avec succès, n'a plus répondu au produit lors d'une nouvelle rechute. L'halofuginone est extrêmement actif *in vitro* sur les schizontes de *T. parva* en culture de lymphocytes, à des concentrations aussi basses que 0,01 et 0,02 ppm.

Il n'a pas fait preuve d'activité sur quelques espèces de Rickettsiales et de *Babesia*, excepté sur *Babesia ovis*. L'administration orale de 2 mg/kg peut causer une diarrhée passagère, sans gravité, chez les bovins, tandis qu'une dose de 4 mg/kg peut être mortelle pour la souris. Un effet cytopathogène est évident, à des concentrations basses, en culture de lymphocytes.

INTRODUCTION

La lutte contre la theilériose bovine africaine causée par *Theileria parva*, dont l'importance n'a pas besoin d'être soulignée, se limite jusqu'à présent à la lutte contre les vecteurs, en premier lieu la tique *Rhipicephalus appendiculatus*. Aucun médicament n'est en vente qui soit efficace dans le traitement de cas cliniques de cette maladie. Les espoirs fondés sur un antipaludique du groupe des naphthoquinones, le menoctone (5) se sont révélés être prématurés, le composé étant trop cher et difficile à synthétiser (6), et des essais avec des composés apparentés se poursuivent. Bien que l'on sache, depuis les premières observations de NEITZ (12), que certains antibiotiques du groupe des tétracyclines possèdent une certaine activité au début de la période d'incubation et que cette activité s'est montrée d'une grande valeur lors de l'immunisation expérimentale par l'administration simultanée de sporozoïtes et d'antibiotique (15, et de nombreuses autres publications), les effets de ces antibiotiques sont

nuls ou très insuffisants lorsque le traitement est effectué pendant la maladie clinique. NEITZ (11) a d'autre part montré que certains antipaludiques du groupe des 8-aminoquinolines sont actifs sur les stades érythrocytaires (piroplasmes), mais n'influencent pas les schizontes dans les lymphocytes, stades qui déterminent en majeure partie la pathogenèse de la maladie. Bien que des expériences d'immunisation très prometteuses aient été effectuées sur le terrain (21), cette méthode de lutte n'est pas encore appliquée et on se trouve donc toujours désarmé contre la maladie lors de résistance de la part des tiques contre les ixodides.

A la demande du Dr J. C. BOUFFAULT de la compagnie Roussel Uclaf, nous avons fait quelques essais avec un anticoccidien, déjà en vente, l'halofuginone (Sténorol, N. D.). Son activité comme anticoccidien fut d'abord rapportée par YVORÉ *et al.* (23), tandis que MANUEL *et al.* (9, 10) signalent son action sur la leucocytozoonose des poules. Lors de la rédaction de cette note-ci, nous avons pris connaissance des

résultats de SCHEIN et VOIGT (16), qui ont expérimenté l'halofuginone sur les theilérioses bovines causées par *Theileria annulata* et *T. parva*, résultats que nos expériences confirment et élargissent en ce qui concerne *T. parva*. Nous mentionnons également quelques observations sur son effet sur *T. mutans* et d'autres agents infectieux.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Halofuginone

C'est un produit synthétique (bromhydrate de chloro-6-bromo-7-fébrifugine), dérivé d'un alcaloïde de la plante *Dichroa febrifuga*, utilisée depuis des siècles contre le paludisme en Chine.

Le traitement de cas cliniques de theilériose a été effectué avec le prémix à 0,6 p. 100, présentation destinée à être mélangée dans les aliments des volailles. Le prémix a été administré dans tous les cas par voie orale, à la bouteille, dans de l'eau.

L'halofuginone pure a été utilisée pour étudier l'activité sur les schizontes de *T. parva in vitro*, en culture de cellules. Le produit a été directement dissout à 1 ppm dans du milieu de culture ; cette solution servait de base pour l'établissement des concentrations voulues dans les cultures.

Souches de *Theileria*

Theileria parva

a) Souche Muguga, originaire du Kenya, décrite par BROCKLESBY *et al.* (1).

b) Souche Onderstepoort, originaire de l'Afrique du Sud, isolée en 1936 (A. J. de VOS, communication personnelle).

c) Souche Pugu 1, originaire de Tanzanie, isolée en 1975 (UILENBERG *et al.* (20)).

d) Souche Uganda, isolée en 1976 en Ouganda par L. SIEFERT.

Ces 4 souches sont du type *parva* classique (Fièvre de la Côte Est).

e) Souche Nyakizu, originaire de Ruanda, isolée en 1978 par R. W. PALING.

f) Souche Boleni, originaire de la Rhodésie, isolée en 1978 par J. A. LAWRENCE.

La souche Boleni, et vraisemblablement également la souche Nyakizu, sont du type *bovis* (theilériose rhodésienne maligne) (UILENBERG *et al.* (18)), type associé à une parasitémie peu élevée et un nombre modéré de schizontes dans les ganglions lymphatiques.

g) Souche Manyara, isolée d'un buffle en Tanzanie (17).

Cette souche est du type *lawrencei* (*Corridor disease*), associé à un nombre faible ou modéré de schizontes et le plus souvent sans stades érythrocytaires chez les bovins domestiques.

Theileria mutans

Souche Katsina, originaire du Nigéria (13).

Animaux d'expérience

Veaux de race frisonne, entre 130 et 190 kg, nés aux Pays-Bas. L'évolution des infections a été suivie par la prise de la température, l'observation clinique et par l'étude microscopique de frot-tis de sang périphérique et de lymphes obtenue par biopsie des ganglions préparotidiens et pré-scapulaires.

Tiques

Des élevages de tiques *Rhipicephalus appendiculatus* et *Amblyomma variegatum*, vecteurs respectifs de *T. parva* et de *T. mutans*, sont maintenus au laboratoire. Les tiques au repos sont exposées à une température de 20 °C et une humidité relative de 90 p. 100, tandis que les stades devant pondre, éclore ou muer, le sont à la même humidité relative, mais à une température de 27 °C. Les transmissions de *T. parva*, par des tiques adultes infectées au stade nymphal, ont été effectuées soit par des adultes vivants, mis sur les oreilles du veau, soit par des « stabilats » congelés, injectés par voie sous-cutanée (14, 3). *T. mutans* a été transmise par des nymphes d'*A. variegatum*, infectées au stade larvaire.

Culture de *T. parva*

Les cultures de schizontes ont été commencées et maintenues selon les méthodes de MALMQUIST *et al.* (8, 7) quelque peu modifiées.

Les tests *in vitro* ont été effectués dans des flacons plats, en matière plastique, bouchés par des capsules à pas de vis, couchés horizontalement. Tous les flacons d'un test étaient ensemencés avec une même quantité de cellules (qui pouvait être différente de test en test). Le milieu de culture, 10 ml dans tous les cas, contenait de l'halofuginone, tandis que des flacons non additionnés du produit servaient de témoins. Les cultures étaient incubées et observées pendant 72 h, parfois 96, sans renouveler le milieu. Dans quelques cas seulement, le milieu de culture a été remplacé après 72 h par du milieu frais, de nouveau additionné d'halofuginone. Les effets du traitement étaient évalués toutes les 24 h :

a) Par l'examen au microscope des cultures

vivantes et de frottis de sédiment de culture, fixés au méthanol et coloré au Giemsa. Le pourcentage de lymphocytes infectés de schizontes reconnaissables et l'aspect morphologique des schizontes et des lymphocytes étaient notés.
b) Par comptage du nombre de lymphocytes par ml de culture.

Test sérologique

La réaction d'immunofluorescence indirecte a été utilisée, selon les méthodes de BURRIDGE (2), pour diagnostiquer l'espèce de *Theileria* en cause dans une infection mixte, selon UILENBERG *et al.* (19).

RÉSULTATS

a) *In vivo*

Les figures 1 à 5 montrent en résumé les résultats obtenus sur *T. parva*. Tous les animaux ont guéri après un traitement unique à la dose de 2 mg/kg (1/3 de g de prémix à 0,6 p. 100 par kg) (4 animaux) ou de 1 mg/kg (veau 353), y compris le veau 362, traité à un stade bien avancé de la maladie, au moment où la parasitémie était déjà de plus de 10 p. 100 et où les schizontes étaient très nombreux dans tous les ganglions. L'infection chez le veau 360, par la souche Manyara

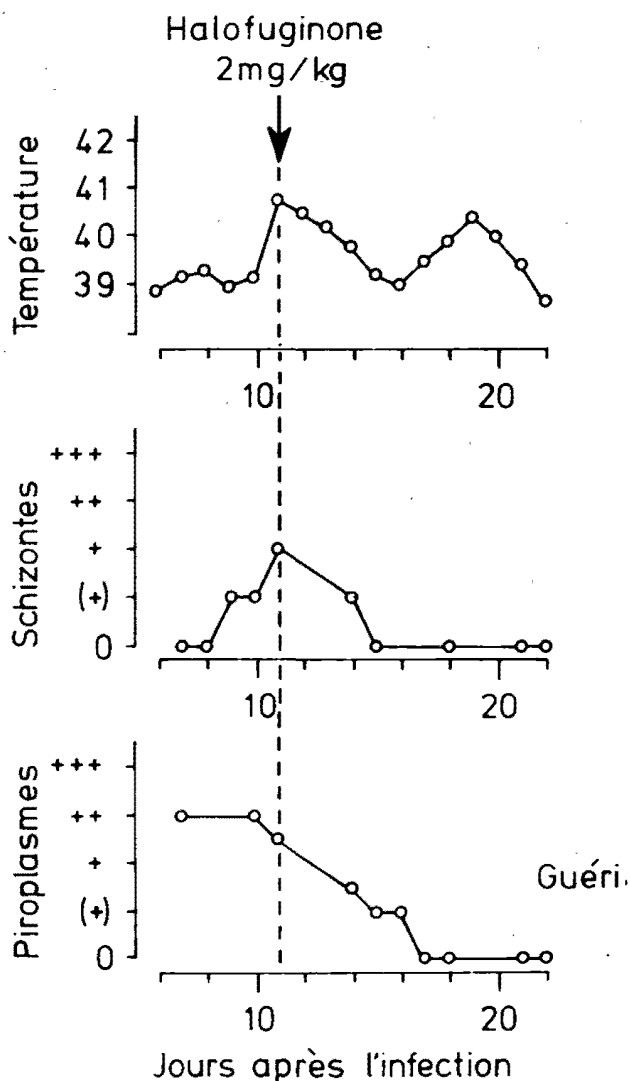


Fig. 1. — Veau 345. Splénectomisé. Porteur de *T. mutans* au moment de l'infection par *T. parva* (Muguga). Transmission par *R. appendiculatus*.

Nombre de schizontes :

(+) = rares. + = assez nombreux. ++ = nombreux. +++ = très nombreux (nombre de schizontes voisin de celui de lymphocytes).

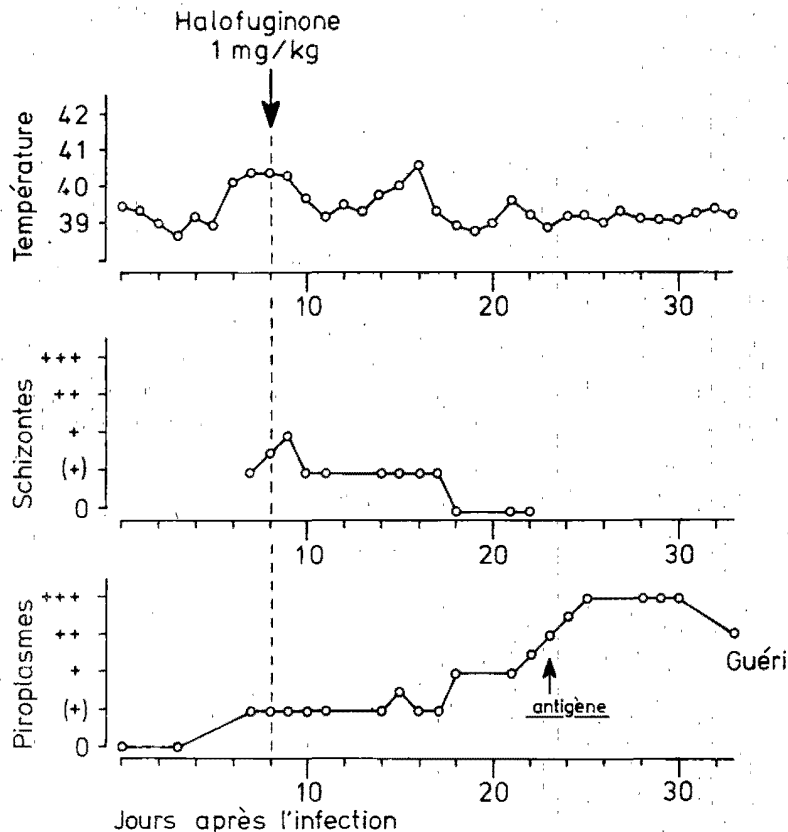


Fig. 2. — Veau 353. Splénectomisé. Porteur de *T. mutans* au moment de l'infection par *T. parva* (Onderstepoort). Transmission par stablat.

TABL. N°I -Epreuves d'immunité d'animaux guéris de *Theileria parva* après traitement avec l'halofuginone

N° du veau	Souche initiale	Souche d'épreuve	Jour 1)	Hyperthermie Durée 2)	R é s u l t a t			
					Maximum	Schizonts Durée 2)	Maximum	Symptômes
345	Muguga	Muguga	28	-	-	-	-	Aucune réaction
345	Muguga	Nyakizu	114	19	41°3	20	++	Guéri après maladie grave.
353	Onderstepoort	Onderstepoort	30	-	-	-	-	Aucune réaction
357	Pugu 1	Pugu 1	30	3	-	-	-	Pas de réaction attribuée à l'épreuve
360	Manyara	Nyakizu	52	18	41°0	16	+	Guéri après maladie assez grave
362	Onderstepoort	Onderstepoort	59	7	40°2	5	(+)	Guéri après maladie légère

1) = jour après l'infection initiale.

2) = durée en jours.

3) = Hyperthermie de 40° 3, 9 jours après l'épreuve attribuée à une rechute de pneumonie dont 357 avait souffert auparavant ; guérie par l'administration d'oxytétracycline (Terramycine L. A. R.), 12 jours après l'épreuve, à la dose unique de 20 mg/kg traitement qui n'a pas d'influence appréciable sur une theilériose clinique.

Les épreuves ont été effectuées par des stablats ayant fait preuve de leur infectiosité chez des veaux témoins. L'apparition éventuelle de piroplasmes suivant l'épreuve n'est pas indiquée. Il n'y en eut pas chez 357 et 362. Des piroplasmes furent observés chez 360 à partir de 14 jours après l'épreuve, avec un maximum d'environ 0,5 p. 100 le 17^e jour, mais on ne peut pas exclure une rechute de la souche initiale, Manyara, étant donné que les bovins peuvent rester porteurs de souches du type *lawrencei*. Moins de certitude encore chez 345 et 353, porteurs de *T. mutans* : la parasitémie, apparente au moment de l'épreuve, augmentait sans qu'il ait été possible de savoir si, parmi les piroplasmes de *T. mutans*, il y en avait quelques-uns de *T. parva*.

7^e colonne : Lire Schizontes. 5^e colonne : Lire 3). 6^e colonne, ligne 357, ajouter un tiret.

(*Corridor disease*) a aussi bien répondu au traitement que celle chez les autres, par des souches de type *parva* classique. L'hyperthermie diminue rapidement et l'état clinique s'améliore moins de 24 h après le traitement. Les schizontes dans les ganglions ont un aspect dégénéré le lendemain de l'administration de l'halofuginone, n'augmentent plus en nombre et ont disparu de 3 à 15 jours suivant le traitement, bien qu'ils aient repris un aspect normal vers la fin.

Les ganglions infectés, grandement tuméfiés, diminuent de volume. L'effet sur les piroplasmes est bien moins spectaculaire et peut-être inexistant, bien qu'ils semblent parfois avoir un aspect dégénéré pendant quelques jours suivant le traitement. Leur disparition n'est guère plus rapide que celle que l'on observe chez les rares animaux non traités qui guérissent spontanément ; chez le

veau 360, infecté par la souche Manyara, qui d'ordinaire n'aboutit pas à la formation de piroplasmes chez le bovin domestique, ceux-ci font justement leur apparition 14 jours après le traitement (fig. 4) ; chez le veau 357 enfin, le nombre de piroplasmes augmente encore jusqu'à 3 jours après l'administration du médicament. La condition des animaux infectés et traités n'a pas été grandement affectée, excepté un seul sujet (357), devenu anémié par suite de l'épérythrozoose intercurrente (fig. 3).

Pour les 19 animaux témoins infectés par les mêmes souches (et les mêmes stabilats ou lots de tiques) 10 sont morts et 8 ont été sacrifiés *in extremis*, entre le 13^e et le 23^e jour suivant leur infection. Un seul témoin (infecté par la souche Muguga) a résisté, mais a dû être abattu à l'état cachectique au 56^e jour, bien que les parasites

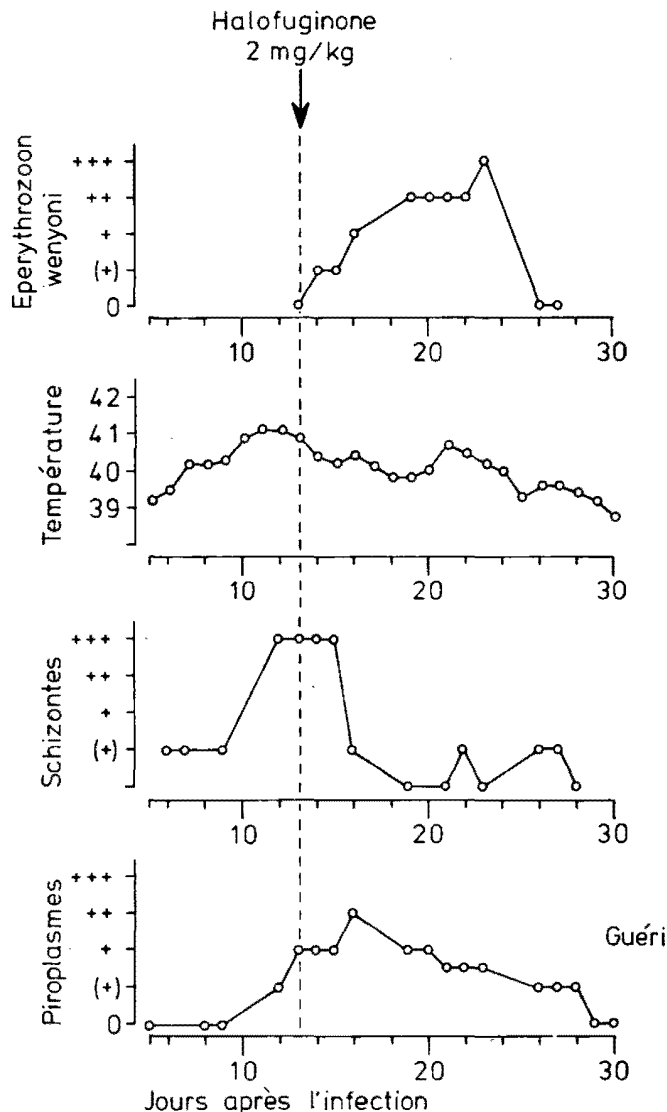


Fig. 3. — Veau 357. *T. parva* (Pugu 1), transmise par stabilat.

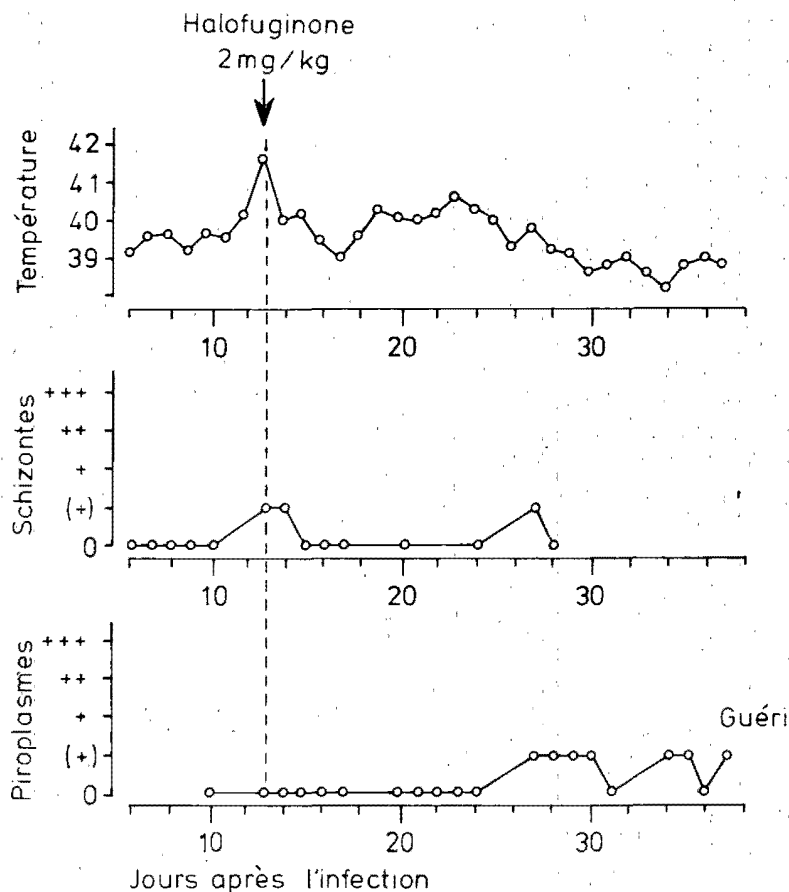


Fig. 4. — Veau 360. *T. parva* (Manyara), transmise par stablat.

aient disparu après le 28^e jour. Tous les témoins ont présenté de nombreux schizontes et le plus souvent de nombreux piroplasmes, et une température élevée. — dépassant dans tous les cas 41 °C. Plus de détails sont donnés par UILENBERG *et al.* (à paraître).

Le tableau I montre les résultats des épreuves d'immunité, effectuées après la guérison par l'halofuginone. Les sujets réinfectés par la souche homologue ont fait preuve d'une immunité complète, sauf dans un cas (362), où elle était néanmoins suffisante pour prévenir une réaction grave. Comme il fallait s'y attendre, la protection ne s'étend pas à une souche immunologiquement différente (Nyakizu), contre laquelle il n'y avait qu'une immunité partielle.

Quelques observations préliminaires (non figurées) sur l'activité de l'halofuginone contre les piroplasmes de *T. mutans* ont donné des résultats contradictoires. Des doses de 1 ou 2 mg/kg, administrées à des veaux splénectomisés ayant des parasitémies élevées, soit après primo-infection, soit au cours de rechutes parasitaires, ont été suivies dans 3 cas d'une disparition totale

des piroplasmes après 3 à 6 jours, après quoi on observa une période aparasitémique de 13 à au moins 26 jours, les piroplasmes faisant ensuite leur réapparition. Une telle période pendant laquelle on ne trouve pas les parasites au microscope n'existe pas chez des veaux splénectomisés non traités ; chez 4 veaux témoins, suivis pendant de longues périodes, nous n'avons même pas pu constater l'absence de piroplasmes pendant un seul jour. L'halofuginone possède donc une activité certaine, mais une 4^e observation s'oppose aux autres : les observations sur le veau en question (353) sont données dans la figure 2, d'où il ressort que les piroplasmes de *T. mutans* augmentent en nombre au lieu de diminuer et de disparaître. Le tableau II donne l'histoire antérieure de ce veau ; y aurait-il accoutumance de *T. mutans* au produit après les 2 traitements précédents ?

Ajoutons, sans donner plus de détails, quelques observations préliminaires sur d'autres parasites. L'halofuginone, à la dose de 1 mg/kg, a guéri un mouton splénectomisé d'une infection expérimentale par *Babesia ovis*, tandis que le

TABL. N°II -Observations sur le veau 353, infecté par *Theileria mutans*

Jour (1)	Piropasmes	Halofuginone	Résultat
20	> 20 p.100	1 mg/kg	Aucun parasite trouvé entre jours 26 et 52
60	1 "	1 mg/kg	Aucun parasite trouvé entre jours 63 et 90 ⁽¹⁾
91	< 0,1 "	1 mg/kg	Augmentation de la parasitémie (voir fig. 2) ⁽²⁾

(1) Jours après l'application des *Amblyomma variegatum* infectés de *T. mutans*. Le jour 0 précède l'infection par *T. parva* de 83 jours ; le jour 90 correspond donc au jour 7 de la figure 2.

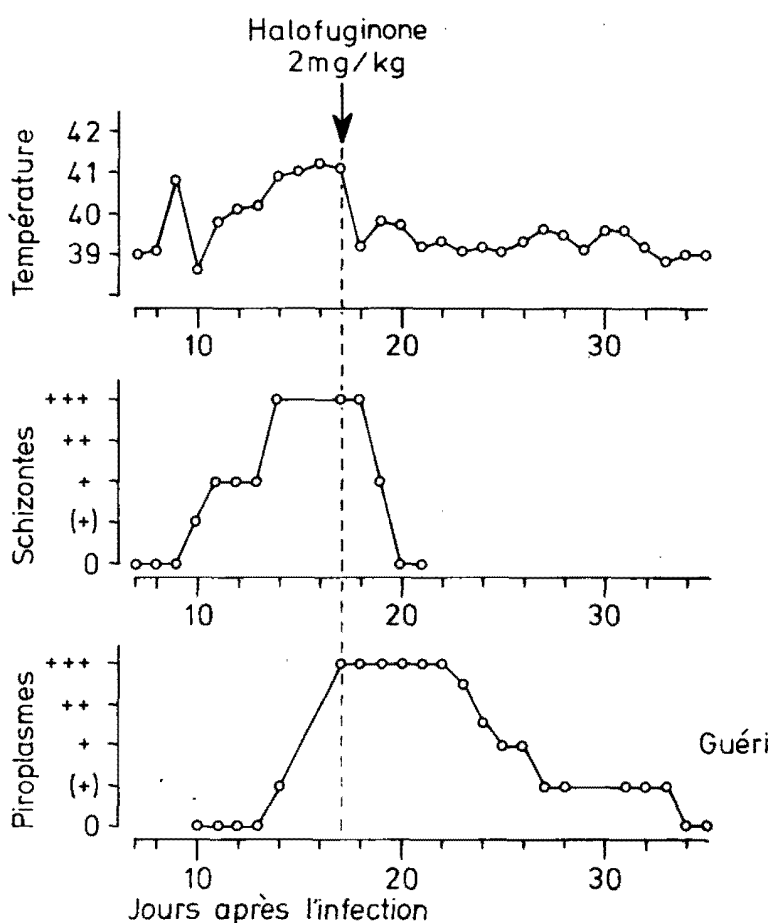
(2) Les piropasmes appartenaient bien à *T. mutans* : De l'antigène préparé du sang de 353 au jour 105 (jour 22 de la fig. 2) a réagi avec du sérum anti-*mutans* et non pas avec du sérum contre *T. parva*. La morphologie des piropasmes correspondait également à celle de *T. mutans* (polymorphisme, formes caractéristiques en bâtonnet à noyau bacilliforme, formes en croix, taille moyenne plus grande que celle de *T. parva*).

mouton témoin en est mort. Le produit s'est montré par ailleurs sans effet sur *Babesia divergens* (1 mg/kg, 1 cas, veau splénectomisé), sans effet sur *Babesia major* (1 et 2 mg/kg, 2 cas, veaux splénectomisés), sans effet sur *Babesia rodhaini* et *Babesia microti* (jusqu'à 4 mg/kg, souris blanches), sur *Anaplasma mesaeterum* (2 mg/kg, 1 cas, mouton splénectomisé), sur *Cowdria rumi-*

nantium (2 fois 2 mg/kg avec intervalle de 24 h, 1 cas, chèvre) et sur *Eperythrozoon wenyonii* (2 mg/kg, 1 cas, veau 357, fig. 3).

b) In vitro

Le tableau III montre les résultats obtenus sur les schizontes de 5 souches de *T. parva* en culture et donne également des indications sur l'effet

Fig. 5. — Veau 362. *T. parva* (Onderstepoort), transmise par stabilat.

TABL. N°III-Activité de l'halofuginone *in vitro* en culture de lymphocytes infectées de *T. parva*

Concentration (ppm halofuginone)	Incubation (heures)	Pourcentage de lymphocytes infectées					Etat des lymphocytes(1)					Nombre de lymphocytes par ml ($\times 10^4$)				
		P	N	B	U	O	P	N	B	U	O	P	N	B	U	O
0	0	88	93				4 ⁺	4 ⁺				48	32		10	
	24	92	91	95		96	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺		4 ⁺	75		12		27
	48	89	95	91	94	97	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	102	82	33	30	45
	72	91	92	92	92	94	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	4 ⁺	117		47	53	61
	96	89					3/4 ⁺									
0,005	24	83					4 ⁺					61				
	48	84					3 ⁺					48				
	72	78					2 ⁺					39				
0,01	24	76	94				4 ⁺	3 ⁺				51	50			
	48	61	46		51		3 ⁺	3 ⁺				48	41		25	
	72	56	41		47		2 ⁺	3 ⁺		3 ⁺		53	45		19	
	96									0 ⁺					-	
0,02	24	81	75				3 ⁺	3 ⁺				74	42			
	48	65	20	62	52		3 ⁺	3 ⁺	3 ⁺	3 ⁺		54	32	22	22	
	72	46	3	12	34		2 ⁺	2 ⁺	2 ⁺	2 ⁺		35	29	20	20	
	96						0 ⁺		0 ⁺	0 ⁺		-		-	-	
0,04	24	59	62			76	3 ⁺	3 ⁺			3 ⁺	51	55			34
	48															
	72		18	53	57	57		3 ⁺	2 ⁺	2 ⁺	1 ⁺		24	16	14	8
	96								0 ⁺	0 ⁺	0 ⁺			-	-	-
0,08	24			76					1 ⁺					3		
	48				65				0 ⁺	1 ⁺				-	(+)	
	72									0 ⁺					-	
0,16	48									0 ⁺					-	
0,2	24								0 ⁺					-		

P = *T. parva* (Pugu 1) — N = *T. parva* (Nyakizu) — B = *T. parva* (Boleni) — U = *T. parva* (Uganda) — O = *T. parva* (Onderstepoort).

Les résultats donnés pour Pugu 1 sont les moyennes de 4 tests, chaque test étant triplé, pour Nyakizu de 3 tests triplés, pour Boleni de 3 tests dupliqués, pour Uganda d'un test dupliqué et pour Onderstepoort d'un test unique.

Les symboles de 4 + à 0 + constituent une échelle arbitraire indiquant l'état des lymphocytes (adaptée de McHARDY, 1978, qui emploie les symboles de 5 + à 1 +) : 4 + signifie un état optimal, 0 + indique la mort de la totalité des lymphocytes.

(+) = nombre de lymphocytes non compté (0,08 ppm, 48 h, Uganda).

cytopathogène de l'halofuginone sur les lymphocytes. L'activité sur le parasite est encore évidente à une concentration de 0,01 ppm, mais il y a également un effet nuisible sur la multiplication des lymphocytes à la même concentration et même à 0,005 ppm. Dans 2 cas, nous avons renouvelé le milieu de culture (additionné d'halofuginone frais) après 72 h, ce qui diminue encore le pourcentage de lymphocytes infectées, sans qu'il descende toutefois à 0, et semble peut-être refréner l'effet cytopathogène (tabl. IV).

Les résultats indiquent qu'il pourrait y avoir des différences de sensibilité à l'halofuginone entre différentes souches de *T. parva*, ce qui, pour être confirmé, nécessitera d'autres expériences, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*.

L'effet du produit sur les schizontes est nettement visible au microscope. Ils prennent un aspect dégénéré, leurs noyaux deviennent plus petits, et à la fin ils ne sont plus reconnaissables. Les cellules lymphoblastoïdes de culture, débarrassées des parasites, reprennent fréquemment un aspect de petits lymphocytes ordinaires.

L'effet cytopathogène est visible au microscope par l'augmentation des vacuoles dans le cytoplasme des lymphocytes, suivie par la mort des cellules et leur désintégration.

c) Toxicité

La toxicité de l'halofuginone pour les bovins n'a pas encore été évaluée. Nous n'en avons pas observé de signes, à la dose de 2 mg/kg, autres

TABL. N°IV—Influence du renouvellement du milieu de culture et de l'halofuginone

Concentration (ppm halofu- ginone)	Incubation (heures)	Pourcentage de lymphocytes infectées		Etat des lymphocytes		Nombre de lymphocytes par ml ($\times 10^4$)	
		N	P	N	P	N	P
0,04	0	93	88	4 ⁺	4 ⁺	32	48
	24	62	59	3 ⁺	3 ⁺	55	51
	72	18		3 ⁺		24	
		renouvellement du milieu et de l'halofuginone à 0,04 ppm					
	96	13	8	2 ⁺	1 ⁺	13	35
	120	2		1 ⁺		2	

(voir le tableau III pour la légende)

que parfois de la diarrhée passagère. A la dose de 4 mg/kg, le produit a tué un certain pourcentage de nos souris et il semble que cette dose soit voisine de la DL50 pour la souris (J. C. BOUFFAULT, communication personnelle). Un effet cytopathogène se manifeste déjà à des concentrations très basses dans les cultures de lymphocytes.

Il se peut donc que la marge de sécurité entre les doses thérapeutiques et les doses toxiques pour le bovin soit assez réduite.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Ces quelques observations *in vivo* confirment l'activité curative de l'halofuginone sur des cas cliniques de la fièvre de la Côte Est, rapportée par SCHEIN et VOIGT (16) ; cette activité s'étend également à la *Corridor disease*. Elles confirment également que l'action semble s'exercer principalement sur les schizontes et non pas sur les piroplasmes, qui d'ailleurs ne jouent pas un rôle important dans la pathogenèse de ces maladies. Le retour de la température à la normale et la disparition des schizontes n'ont toutefois pas été aussi rapides dans tous les cas que chez les animaux observés par SCHEIN et VOIGT. La guérison est suivie d'immunité contre la souche homologue, mais, ce qui est surprenant, cette immunité n'était pas complète chez un animal traité à un stade avancé de la maladie. Des études ultérieures sur ce point s'imposent.

L'activité curative de l'halofuginone sur la theilériose ne sera peut-être pas suffisante à elle seule pour ramener le sujet à l'état normal dans tous les cas. Il semble que la fièvre de la Côte Est puisse causer une immunodépression (22) et cela est confirmé par la parasitémie élevée à *Eperythrozoon wenyonii* chez le veau 357, suivant l'infec-

tion et le traitement. De telles rechutes à *Eperythrozoon* ont également été observées chez des animaux souffrant de la maladie contractée sur le terrain (21), mais elles sont rarissimes chez les animaux sains (non splénectomisés). Nous avons, de plus, vu des pneumonies (déterminées dans quelques cas comme dues à *Pasteurella multocida*) se développant chez des animaux souffrant de theilériose expérimentale à *T. parva* (observations non publiées) ; à noter également la rechute d'une pneumonie chez le veau 357 après l'épreuve (tabl. I). Il faudra dans ces cas combiner le traitement spécifique de la theilériose à celui dirigé contre la maladie intercurrente, ce qui n'est pas toujours faisable dans les conditions de la brousse.

Les expériences *in vitro* confirment que l'halofuginone est un schizonticide puissant, dont l'efficacité est au moins égale à celle rapportée pour le menotone (4). L'utilité du test *in vitro* pour évaluer l'activité de différents produits sur les infections à *T. parva* est confirmée, bien que dans ce cas le test n'ait apporté qu'une confirmation des expériences *in vivo*.

Une activité sur les piroplasmes de *T. mutans* semble certaine, mais l'observation que ceux-ci n'ont plus répondu au produit après 2 traitements précédents est inquiétante, étant donné que la possibilité d'une résistance acquise au produit doit être considérée. Cette possibilité est à examiner, également pour *T. parva*.

L'absence d'activité sur les quelques *Babesiae* expérimentées, excepté *B. ovis*, est décevante, mais pas tellement surprenante, étant donné le manque d'activité sur les piroplasmes de *T. parva*, stade dans le cycle correspondant aux *Babesiae* intraérythrocytaires. L'halofuginone n'a par ailleurs fait preuve d'aucune activité sur les quelques Rickettsiales expérimentées.

La toxicité du produit pour le bovin et pour d'autres mammifères reste à être étudiée. L'effet cytopathogène *in vitro* et la mortalité chez les souris traitées à seulement 4 mg/kg incitent à la prudence. La dose minimale thérapeutique chez le bovin doit encore être établie. Le produit est actif contre *T. parva* à 1,2 mg/kg (16) et même à 1 mg/kg (un seul cas, ci-dessus). Aussi bien l'effet thérapeutique que l'effet toxique pourrait d'ailleurs être différent d'un animal à l'autre, selon la dilution du médicament dans le rumen, plus ou moins plein. Il est également possible que l'effet soit différent si le réflexe de fermeture de la gouttière œsophagienne se produit ou ne se produit pas.

La présentation d'halofuginone actuellement sur le marché, ne permet pas d'autre méthode d'administration que par la bouche. Cette méthode, applicable en élevage intensif, n'est pas des plus commodes quand on a affaire aux animaux peu habitués à être manipulés, en élevage extensif. L'halofuginone étant irritant pour les

tissus, il n'a pas été possible de formuler une présentation injectable par voies sous-cutanée ou intramusculaire (J. C. BOUFFAULT, communication personnelle).

Quoi qu'il en soit, nous possédons actuellement un médicament, sur le marché, capable de guérir les theilérioses malignes.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Dr J. C. BOUFFAULT de Roussel Uclaf de nous avoir envoyé de l'halofuginone et de nous avoir fait part de quelques données non publiées sur ce produit. Nous sommes reconnaissants aux chercheurs suivants de nous avoir fourni des souches de *T. parva* : E. SCHEIN, Berlin, Allemagne Fédérale (Muguga, Uganda), A. J. de VOS, Pretoria, Afrique du Sud (Onderstepoort), R.W. PALING, Butare, Ruanda (Nyakizu) et J. A. LAWRENCE Salisbury, Zimbabwe (Boleni).

SUMMARY

Chemotherapy of cattle theileriosis with Halofuginone, an anticoccidian Preliminary note

The coccidiostat halofuginone is a potent schizonticide on *Theileria parva*, causal agent of East Coast fever and Corridor disease of cattle in Africa. Clinical cases of these diseases are cured by single oral administration of 1 to 2 mg/kg.

The product does not appear to be very active against the piroplasms of *T. parva*. It causes a temporary aparasitaemia in *T. mutans* infection, except for one splenectomized calf, treated twice successfully, where the parasite did not respond any more to treatment of yet another relapse. The product is extremely active *in vitro* on *T. parva* schizonts in lymphocyte cell culture, at concentrations as low as 0.01 and 0.02 ppm. Halofuginone does not appear to be effective against a few species of Rickettsiales and *Babesia*, on which it was tested, except for *Babesia ovis*. Oral administration of 2 mg/kg may cause temporary diarrhoea, without serious consequences, in cattle, but 4 mg/kg may cause death in mice. Halofuginone in low concentrations is cytopathogenic in lymphocyte cultures.

RESUMEN

Quimioterapia de las theileriosis bovinas por un producto anti-coccidios, Halofuginone. Nota preliminar

Halofuginone, producto anti-coccidios, es un esquizotónica poderoso contra *Theileria parva*, agente de la theileriasis y de la *Corridor disease* de los bovinos en Africa. Dosis únicas de 1 a 2 mg/kg, administradas *per os* curan casos clínicos de dichas enfermedades.

El medicamento no parece poseer una actividad importante sobre los piroplasmos de *Th. parva*. Hace desaparecer temporalmente los de *Th. mutans* salvo en un caso cuando un ternero esplenectomizado, tratado dos veces con éxito, quedó infectado después de una recaída, el medicamento siendo entonces sin efecto. Halofuginone es sumamente activo *in vitro* sobre los esquizontes de *Th. parva* en cultivo de linfocitos, con concentraciones tan bajas como 0.01 y 0.02 ppm.

No demostró actividad sobre algunas especies de rickettsiales y de *Babesia* salvo *Babesia ovis*. La administración *per os* de 2 mg/kg puede causar una diarrea pasajera, sin gravedad, en los bovinos, mientras que una dosis de 4 mg/kg puede ser mortal para el ratón. Un efecto citopatógeno es evidente, con concentraciones bajas, en cultivo de linfocitos.

BIBLIOGRAPHIE

1. BROCKLESBY (D. W.), BARNETT (S. F.), SCOTT (G. R.). Morbidity and mortality rates in East Coast fever (*Theileria parva* infection) and their application to drug screening procedures. *Brit. vet. J.*, 1961, **117** : 529-531.
2. BURRIDGE (M. J.). Application of the indirect fluorescent antibody test in experimental East Coast fever (*Theileria parva* infection of cattle). *Res. vet. Sci.*, 1971, **12** : 338-341.
3. CUNNINGHAM (M. P.), BROWN (C. G. D.), BURRIDGE (M. J.), PURNELL (R. E.). Cryo-preservation of infective particles of *Theileria parva*. *Int. J. Parasit.*, 1973, **3** : 583-587.
4. MCHARDY (N.). *In vitro* studies on the action of menoctone and other compounds on *Theileria parva* and *T. annulata*. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1978, **72** : 501-511.
5. MCHARDY (N.), HAIGH (A. J. B.), DOLAN (T. T.). Chemotherapy of *Theileria parva* infection. *Nature, Lond.*, 1976, **261** : 698-699.
6. MCHARDY (N.), RAE (D. G.). Therapy of *Theileria parva* infection with Menoctone. *Proc. 4th Int. Congr. Parasit., Warszawa*, 1978, sect. D : 104.
7. MALMQUIST (W. A.), BROWN (C. G. D.). Establishment of *Theileria parva* infected lymphoblastoid cell lines using homologous feeder layers. *Res. vet. Sci.*, 1974, **16** : 134-135.
8. MALMQUIST (W. A.), NYINDO (M. B. A.), BROWN (C. G. D.). East Coast fever : cultivation *in vitro* of bovine spleen cell lines infected and transformed by *Theileria parva*. *Trop. anim. Hlth Prod.*, 1970, **2** : 139-145.
9. MANUEL (M. F.), MORALES (E.), TROVELA (E.). The prophylactic value of clopidol, halofuginone and furazolidone against leucocytozoonosis in chickens. *Philipp. J. vet. Med.*, 1977, **16** : 20-30.
10. MANUEL (M. F.), TROVELA (E.). Further studies on the prophylactic value of halofuginone and furazolidone against leucocytozoonosis in chickens under field conditions. *Philipp. J. vet. Med.*, 1977, **16** : 31-39.
11. NEITZ (W. O.). The specific action of pamaquin on the haemotropic parasites of *Theileria parva*. *S. Afr. J. Sci.*, 1950, **46** : 218-219.
12. NEITZ (W. O.). Aureomycin in *Theileria parva* infection. *Nature, Lond.*, 1953, **171** : 34-35.
13. PERIE (N. M.), UILENBERG (G.), SCHREUDER (B. E. C.). *Theileria mutans* in Nigeria. *Res. vet. Sci.*, 1979, **26** : 359-362.
14. PURNELL (R. E.), BROWN (C. G. D.), CUNNINGHAM (M. P.), BURRIDGE (M. J.), KIRIMI (I. M.), LEDGER (M. A.). East Coast fever : correlation between the morphology and infectivity of *Theileria parva* developing in its tick vector. *Parasitology*, 1973, **66** : 539-544.
15. RADLEY (D. E.), BROWN (C. G. D.), BURRIDGE (M. J.), CUNNINGHAM (M. P.), KIRIMI (I. M.), PURNELL (R. E.), YOUNG (A. S.). East Coast fever : I. Chemoprophylactic immunization of cattle against *Theileria parva* (Muguga) and five theilerial strains. *Vet. Parasit.*, 1975, **1** : 35-41.
16. SCHEIN (E.), VOIGT (W. P.). Chemotherapy of bovine theileriosis with halofuginone. Short communication. *Acta trop.*, 1979, **36** : 391-394.
17. SCHREUDER (B. E. C.), UILENBERG (G.), TONDEUR (W.). Studies on Theileriidae (Sporozoa) in Tanzania. VIII. Experiments with African buffalo (*Syncerus caffer*). *Tropenmed. Parasit.*, 1977, **28** : 367-371.
18. UILENBERG (G.), PERIE (N. M.), LAWRENCE (J. A.), DE VOS (A. J.), PALING (R. W.), SPANJER (A. A. M.). The causal agents of bovine theileriosis in southern Africa. *Trop. anim. Hlth Prod.* (sous presse).
19. UILENBERG (G.), ROBSON (J.), PEDERSEN (V.). Some experiments on the transmission of *Theileria mutans* (Theiler, 1904) by the ticks *Amblyomma variegatum* (Fabricius, 1794) and *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann, 1901, in Uganda. *Tropenmed. Parasit.*, 1974, **25** : 207-216.
20. UILENBERG (G.), SCHREUDER (B. E. C.), SILAYO (R. S.), MPANGALA (C.). Studies on Theileriidae (Sporozoa) in Tanzania. IV. A field trial on immunization against East Coast fever (*Theileria parva* infection of cattle). *Tropenmed. Parasit.*, 1976, **27** : 329-336.
21. UILENBERG (G.), SILAYO (R. S.), MPANGALA (C.), TONDEUR (W.), TATCHELL (R. J.), SANGA (H. J. N.). Studies on Theileriidae (Sporozoa) in Tanzania. X. A large-scale field trial on immunization against cattle theileriosis. *Tropenmed. Parasit.*, 1977, **28** : 499-506.
22. UILENBERG (G.), ZWART (D.). Skin nodules in East Coast fever. *Res. vet. Sci.*, 1979, **26** : 243-245.
23. YVORE (P.), FOURE (N.), AYCARDI (J.), BENEJEAN (G.). Efficacité du Sténorol (RU 19110) dans la chimioprophylaxie des coccidioses aviaires. *Rec. Méd. vét.*, 1974, **150** : 495-503.